

種間雜交聖誕紅感染植物菌質體之 植物性狀觀察¹

廖晨皓²

摘 要

聖誕紅(*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch)為世界上重要的觀賞盆花之一。在商業育種的過程中，為改善其分枝性與使植株變得緊密，會將聖誕紅實生苗嫁接於已感染植物菌質體的商業品種上，以提升園藝觀賞價值。本研究將種間雜交聖誕紅實生苗‘TSS-6’，藉由嫁接方式使其感染植物菌質體。利用穿透式電子顯微鏡觀察植物菌質體之寄生情形，再以植物菌質體廣效性引子對 P1/P7，進行 PCR 檢測確認菌質體成功感染。同時觀察記錄聖誕紅‘TSS-6’實生苗與嫁接苗其營養與生殖性狀，營養性狀調查結果為嫁接苗分枝能力獲得改善，且葉身比(1.5-1.7)相較實生苗(2.1)低，葉形較圓整，葉緣鋸齒狀程度為無，葉柄較短，整體葉片排列較緊密。生殖性狀調查結果為嫁接苗之花朵直徑(34.3-34.8 cm)大於實生苗(24.6 cm)，苞葉較碩大且平整無扭曲之現象，但花粉活力較實生苗(9.6%)大幅減少，僅有 1.5-2.3%。顯示聖誕紅受到植物菌質體感染後，不僅會使植物外表性狀改變，亦會影響花粉萌發能力。

關鍵字：分枝性、花粉活力、穿透式電子顯微鏡

前 言

聖誕紅為全球花卉市場上重要的盆花作物，主要作為聖誕節布置裝飾等用途，在臺灣於聖誕節至過年期間以內銷為主，根據台北花卉產銷股份有限公司統計資料，2020 年臺灣地區聖誕紅年產量約 122 萬盆，年產值達 1 億 2 千萬元。花市常見的聖誕紅品種具有矮化與多分枝等特性，而這些被視為具觀賞價值的特性，其實是因為感染了聖誕紅叢枝誘導性植物菌質體(*poinsettia branch-Inducing phytoplasma*, PoiBI)所造成的病癥⁽¹⁰⁾。在野外，未感染植物菌質體的聖誕紅會自然生長為小喬木的型態，分枝性差，苞葉較細長，不適合於盆花生產。感染聖誕紅之植物菌質體(*phytoplasma*)類群屬於第三群(16SrIII)H 亞群為主，且目前為止尚未發現該植物菌質體有除了聖誕紅以外的天然植物寄主，也未發現有媒介昆蟲能傳播聖誕紅叢枝誘導性植物菌質體⁽¹¹⁾。

¹行政院農業委員會臺中區農業改良場研究報告第 1036 號。

²行政院農業委員會臺中區農業改良場計畫研究助理。

植物菌質體其細胞結構不具有細胞壁，為一種革蘭氏陽性細菌(gram positive)，只能被侷限在植物維管束韌皮部之篩管細胞中生長，移動性差且分布不均，通常在較成熟組織或老年枝條中累積，為一種絕對寄生病原菌(obligate pathogen)⁽⁷⁾。在野外環境下，傳播植物菌質體的媒介昆蟲有葉蟬、飛蝨等，藉由吸食不同棵寄主植物之韌皮部組織汁液，同時傳播植物菌質體，達成植物菌質體的生命史循環⁽⁶⁾。當作物遭受植物菌質體感染時，植株的生長會有異常現象，例如枝條增生(shoot proliferation)、矮化(dwarf, stunting)、植株黃化(yellowing)、花器葉片化(phyllody)及簇葉(witches' broom)等植株外顯的病徵或器官型態改變^(6,7)。

在聖誕紅的商業育種過程中，通常將實生苗作為接穗，嫁接於插穗母株或是分枝性優良的商業品種上，以轉移植物菌質體，改善分枝性，再藉由扦插繁殖維持其多分枝的性狀⁽¹⁾。除了嫁接能將植物菌質體感染聖誕紅，Lee 等人嘗試以寄生植物菟絲子為媒介，也可將植物菌質體從分枝性佳的聖誕紅轉移至未感染植物菌質體的聖誕紅，使側芽可以正常萌發成為側枝⁽¹⁰⁾。而植物菌質體對聖誕紅的外表性狀影響，除了分枝性增加與節間縮短，也使葉片長寬減少、葉形改變及苞葉顏色變得較紅，色相值降低⁽¹⁾。

本研究將聖誕紅種間雜交實生苗‘TSS-6’，以嫁接方式感染聖誕紅叢枝誘導性植物菌質體，再利用電子顯微鏡觀察植物菌質體於嫁接苗之寄生情形，之後進行 PCR 檢測確認植物菌質體是否成功感染，並完成實生苗及嫁接苗之營養與生殖性狀調查，以了解植物菌質體對聖誕紅外觀性狀與生殖能力之影響。

材料與方法

一、植物材料

使用聖誕紅種間雜交實生子代‘TSS-6’(*E. pulcherrima* × *E. cornastra*)之組織培養分生苗 6 盆，其中 3 盆作為對照組，3 盆作為嫁接感染植物菌質體之材料，皆為 3 吋盆。供嫁接使用之聖誕紅商業品種‘閃亮之星’(*E. pulcherrima* ‘Sparkle Star’)3 盆，為 5 吋盆。上述植物材料於 2017 年 5 月扦插繁殖後，種植於中興大學園藝試驗場遮雨溫室內，以聖誕紅慣行栽培方式，種植至開花以備後續試驗調查。

二、試驗方法

(一)聖誕紅嫁接感染植物菌質體

使用嫁接刀將聖誕紅種間雜交實生苗‘TSS-6’之側芽削下作為接穗，商業品種‘閃亮之星’作為砧木，以芽接方式嫁接於成熟且粗壯枝條，完成接合後以石臘膜包覆切口處，等待約 1 週後，觀察接穗之葉柄若是自然脫落，表示傷口已癒合。待接穗發育成新枝條後，摘除頂芽，觀察每個側芽是否順利萌發，之後將側芽順利萌發之枝條做扦插繁殖，以備後續作植物菌質體檢測。

(二)穿透式電子顯微鏡觀察

自感染叢枝誘導性植物菌質體之聖誕紅‘TSS-6’嫁接苗成熟葉片取下，以手術刀將帶葉脈部位切成約 1 mm² 碎片，參考陳和劉(1974)之方式修改部分步驟⁽²⁾，進行葉片樣本固定與脫水，先以含有 2-5% 戊二醛(glutaraldehyde)之 0.1 M 磷酸緩衝液固定處理 15-30 min 重複 3 次，再以含有 1-2% 四氧化鐵(osmium tetroxide)之 0.1 M 磷酸緩衝液固定處理 5-10 min 重複 3 次，完成雙重固定後。接著以 50%、70%、85%及 95%丙酮系列脫水，每階段 20 min，再以 100%丙酮脫水處理 30 min 重複 2 次。完成樣本脫水後，放進膠囊殼中填充樹脂，完成包埋後的樣本，先以手術刀將頂端切出一個梯形體的構造，便於後續使用超薄切片機能順利切出帶有樣本的薄片，最後使用飽和醋酸鈾(uranyl acetate)及 0.2%檸檬酸鉛做雙重染色後，將薄片置於銅網上以穿透式電子顯微鏡(JEM-1010, JEOL, Japan)進行植物菌質體觀察，並拍攝視野全景與篩管內局部照片(圖三)。

(三)DNA 抽取

摘取聖誕紅‘TSS-6’未感染植物菌質體實生苗與感染植物菌質體嫁接苗之葉片，切下葉柄後，表面以酒精消毒，再切取約 100 mg 葉柄組織樣本放入研磨袋，添加 1 ml SCPAP(0.1% disodium succinate, 0.1% trisodium citrate, 0.15% KH₂PO₄, 0.1% K₂HPO₄, 0.02 M sodium ascorbate, and 5% acid-washed insoluble polyvinylpyrrolidone, pH7.0)，將樣本研磨後，萃取液倒入 2 ml 離心管中，以 8,000 rpm 離心 1 min(Sigma3K18, SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Germany)，吸除上清液，接著使用植物組織與細胞基因體 DNA 純化試劑盒(GeneMark, Taichung, Taiwan)，按照說明步驟，進行萃取樣本之總量 DNA，最後將獲得之 DNA 樣本置於-20°C 冰箱中存放，以待後續進行聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)。

(四)感染 16SrIII-H 之聖誕紅樣本 PCR 檢測

以植物菌質體廣效性引子對 P1/P7(5’-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT-3/5’-CGTCC TTCATCGGCTCTT-3’)對聖誕紅‘TSS-6’感染植物菌質體之組織進行聚合酶連鎖反應。引子對 P1/P7 PCR 反應條件參照 Smart 等人⁽¹⁵⁾稍微修改，反應物內容為 0.5 μM 引子對、250 mM dNTPs、0.8 Units ProTaq™ DNA Polymerase(Protech Technology Enterprise Co. Ltd., Taipei, Taiwan)、1 倍反應緩衝液(10 mM Tris-HCl, pH 9.0, 50 mM KCl, 0.01% gelatin, 1.5 mM MgCl₂, 0.1% Triton X-100)，以及 20 ng 基因體 DNA，再加入去離子水至總反應體積 20 μL。聚合酶連鎖反應增幅條件及進行步驟，首先以 94°C 反應 30 sec，之後為 35 個循環重複反應，條件設為 94°C 2 min、55°C 1 min、72°C 90 sec，最後一次反應為 72°C 7 min。

增幅完成後所獲得 PCR 之產物以 1% agarose 進行電泳分析(100V)，並使用 1 Kb DNA ladder H3 RTU(GeneDireX Inc., 5348 Vegas Dr. Las Vegas City, Nevada 89108, USA.)作為核酸標誌物，最後再以溴化乙錠(EtBr)染色觀察，並拍照記錄結果。

(五)聖誕紅營養與生殖性狀調查

參考聖誕紅品種檢定之性狀表⁽⁵⁾，分別調查聖誕紅‘TSS-6’實生苗與嫁接苗之營養性狀，如植株分枝性、節間長、葉片長寬等性狀。於自然短日環境下，待其苞葉完全轉色時進行生殖性狀調

查，測量其花朵直徑，並觀察記錄苞葉是否扭曲，苞葉緣鋸齒狀程度等性狀。每個性狀調查皆為 3 重複，以比較 3 株感染植物菌質體嫁接苗與實生苗之間的性狀差異。

(六)花粉活力檢測

花粉活力檢測參考陸(2015)方法，檢測聖誕紅‘TSS-6’實生苗與感染植物菌質體嫁接苗之花粉活力。於晴朗天氣時收取當天開裂之新鮮花粉。使用 Brewbaker 和 Kwack(1963)之培養基配方，添加 20%蔗糖，並將培養基 pH 值調整至 6.0。將花粉放入含有培養基之雙凹槽載玻片後，置於恆溫箱 (RI80, Firstek Scientific, Taiwan)進行培養，並將溫度調整為聖誕紅最適溫度 20°C⁽³⁾。10 小時後，以搭載數位攝影機(Prog Res[®] CFscan)的光學顯微鏡(ZEISS HBO 50/AC, Zeiss Axiolab, Germany)進行觀察，當花粉管長度超過花粉粒直徑兩倍即視為具萌發能力，每處理隨機選取 3 視野，每視野計算 200 粒花粉，評估花粉萌發率(具萌發能力之花粉數量/200 粒花粉)，同時拍照紀錄，試驗進行 3 重複。

三、統計方法

本研究之試驗為完全逢機設計(Completely Randomized Design, CRD)，使用 CoStat 6.4 版套裝軟體(CoHort software, U.S.A.)中之 ANOVA (Analysis of variance)進行變方分析，以最小顯著性差異測驗(least significant difference test, LSD)，進行性狀調查之數據比較，並分析聖誕紅‘TSS-6’實生苗與感染植物菌質體嫁接苗之數據是否具有顯著性差異($P < 0.05$)。

結果與討論

一、叢枝誘導性植物菌質體對聖誕紅營養及生殖性狀之影響

營養性狀調查結果為聖誕紅‘TSS-6’嫁接苗分枝性較實生苗佳，節間長度(1.2-1.7 cm)較實生苗(2.3 cm)短，葉身比為 1.5-1.7，葉片形狀較實生苗圓整，葉緣鋸齒狀表現為無，且葉柄縮短為 5.0-6.5 cm，整體株型在視覺上較實生苗更為緊湊(表一；圖一)。

關於聖誕紅在嫁接後分枝性提升，受植物菌質體感染產生叢枝外表型的病徵，可能與 TENGU 蛋白有關^(12, 14)。植物菌質體會利用植物細胞轉譯生產 TENGU 蛋白，大小約 30 個胺基酸所組成，之後修飾成 1-12 個胺基酸序列，成為訊號蛋白，再藉由篩管細胞傳遞至寄主植物的頂端分生組織中，影響賀爾蒙的生合成^(14, 16)。Sugawara 等(2013)在擬南芥 TENGU 蛋白轉殖株中，發現其與對照組相較之下皆變得矮小且叢生，推測植物菌質體的 TENGU 蛋白會干擾生長素訊號及合成途徑，抑制生長素合成，使賀爾蒙系統失控，大量合成細胞分裂素，進而抑制頂芽生長，讓寄主植物產生叢生的外表型^(14, 16)。

黃(2002)將聖誕紅實生苗進行嫁接感染植物菌質體，並與無植物菌質體之聖誕紅實生苗進行葉片形態比較，觀察到未感染植物菌質體實生苗的葉緣具鋸齒及深裂缺刻，而已感染植物菌質體的實生苗其葉形變得較圓整，且葉緣鋸齒及缺刻較不明顯⁽⁴⁾。過去研究顯示，聖誕紅雜交所獲得的實生

苗與商業品種透過莖頂培養獲得之植株，較容易出現橡樹形狀的葉片，而在嫁接感染植物菌質體之後，具有鋸齒狀葉緣的葉形通常會消失或是變得不明顯^(1, 4)。本研究結果與上述之調查結果相似，因此可推測植物菌質體確實會改變聖誕紅葉片的形狀。

生殖性狀調查結果為實生苗花朵直徑(圖一)為 24.6 cm 較嫁接苗(34.3-34.8 cm)小，且後期中心苞葉易扭曲，嫁接苗之苞葉則較平整無扭曲之現象，苞葉緣鋸齒狀表現為無(表二；圖一)，且苞葉長(13.0-14.0 cm)與寬(7.3-8.0 cm)，皆更勝於未感染植物菌質體之實生苗。

表一、聖誕紅‘TSS-6’之實生苗與與感染植物菌質體之嫁接苗之營養性狀比較¹

Table 1. Comparison of the vegetative characteristics of hybrids between poinsettia ‘TSS-6’ seedlings and grafted plants infected with phytoplasma

雜交子代	分枝性	節間長 (cm)	葉緣鋸齒狀表現	葉長 (cm)	葉寬 (cm)	葉身比 (長/寬)	葉厚 (mm)	葉柄長 (cm)
‘TSS-6’	無	2.3±0.9 a	淺	10.1±0.2 ab	4.9±0.2 b	2.1±0.0 a	1.5±0.4 a	7.1±1.5 a
‘TSS-6’S1 ²	中	1.2±0.4 b	無	9.2±0.3 b	5.9±0.3 a	1.5±0.1 b	1.0±0.1 ab	3.9±0.9 b
‘TSS-6’S2	中	1.3±0.4 b	無	10.7±0.6 a	6.8±0.3 a	1.6±0.2 b	0.7±0.1 b	4.0±1.1 b
‘TSS-6’S3	中	1.7±0.3 ab	無	10.8±0.7 a	6.2±0.2 a	1.7±0.1 b	0.6±0.2 b	5.5±1.3 b

¹ Means within each column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by LSD test.

² ‘TSS-6’ S1-S3 are plants infected with phytoplasma.

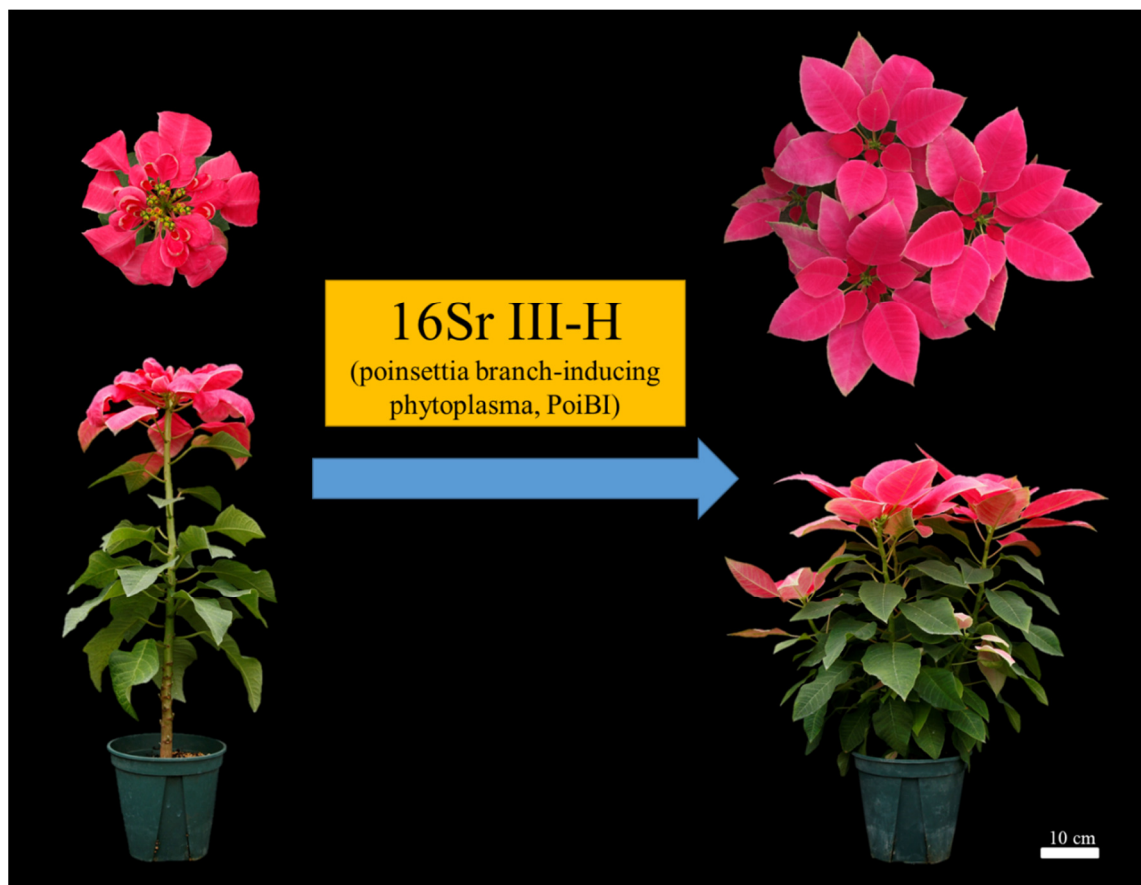
表二、聖誕紅‘TSS-6’之實生苗與與感染植物菌質體之嫁接苗之生殖性狀比較¹

Table 2. Comparison of the reproductive characteristics of hybrids between poinsettia ‘TSS-6’ seedlings and grafted plants infected with phytoplasma

雜交子代	花朵直徑 (cm)	苞葉扭曲	苞葉緣鋸齒狀程度	苞葉長 (cm)	苞葉寬 (cm)	苞葉厚 (mm)	苞葉柄長 (cm)	花粉活力 (%)
‘TSS-6’	24.6±1.9 b	有	淺	10.7±1.1 c	6.2±0.8 b	0.9±0.2 a	6.1±1.3 a	9.6±1.4 a
‘TSS-6’S1 ²	34.7±2.1 a	無	無	13.1±0.9 b	7.3±1.3 ab	0.7±0.1 a	4.2±0.6 b	1.6±0.2 b
‘TSS-6’S2	34.8±1.9 a	無	無	13.0±0.8 b	7.7±0.7 a	0.6±0.0 a	4.5±0.5 b	2.3±0.4 b
‘TSS-6’S3	34.3±1.7 a	無	無	14.0±1.2 a	8.0±0.9 a	0.6±0.1 a	5.1±1.1 b	1.5±0.2 b

¹ Means within each column followed by the same letter(s) are not significantly different at 5% level by LSD test.

² ‘TSS-6’ S1-S3 are plants infected with phytoplasma.



圖一、聖誕紅‘TSS-6’之實生苗與感染植物菌質體之嫁接苗外觀性狀比較。

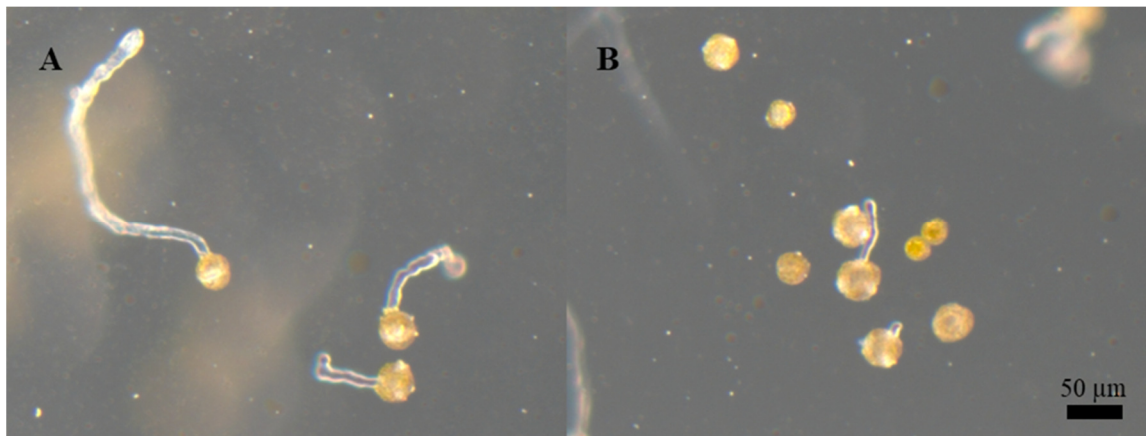
Fig. 1. Comparison of the appearance of poinsettia ‘TSS-6’ seedlings and grafted plants infected with phytoplasma.

花粉活力檢測結果則顯示，感染植物菌質體之嫁接苗較實生苗(9.6%)大幅減少，花粉管大多無法正常萌發，萌發率僅有 1.5-2.3%(表二；圖二)。Huang 和 Chu(2008)切取聖誕紅商業品種‘Success’與‘Red Splendor’之生長點進行組織培養，所獲得之植株，在開花後檢測其花粉活力分別由 24.3%、19.1%提升至 31.0%、33.9%，且花粉管的萌發的長度也增加，分別由 13 μm 、19 μm 提升至 41 μm 、30 μm ，且具有顯著差異⁽⁸⁾。此研究結果證實藉由生長點培養技術，將植物菌質體去除後，可使花粉管萌發能力提升。

Kitazawa 等(2017)研究花生簇葉病之植物菌質體(peanut witches’ broom, PnWB)，其基因組可使寄主轉譯分泌性的蛋白質，SAP54 為其中之一，並導致調控植物花器形成基因的 MADS-box domain 轉錄因子退化，使感染 PnWB 之植物花器葉片化、花藥及雌蕊發育異常以致喪失功能⁽⁹⁾。Minato 等(2014)在擬南芥 TENGU 蛋白轉殖株與感染植物菌質體植株中，發現其內源生長素與茉莉

酸(jasmonic acid)生成與運輸的相關基因 *ARF6* 和 *ARF8* 的表現量均下降，使雌雄蕊生長異常進而造成不孕(sterility)。證實植物菌質體的 TENGU 蛋白訊號會干擾植物荷爾蒙合成途徑，抑制生長素與茉莉酸合成，影響植物的生殖能力⁽¹³⁾。推測此為聖誕紅叢枝誘導性植物菌質體影響寄主生殖能力，導致聖誕紅花粉活力降低的原因。

綜合以上結果，聖誕紅感染植物菌質體後不僅會使植物外表性狀改變，亦會影響聖誕紅的生殖能力。除此之外，聖誕紅‘TSS-6’實生苗在感染植物菌質體之後，葉形變得圓整飽滿，葉柄與節間縮短，分枝性成功獲得改善，使整體株型緊密，苞葉直徑增大且不捲曲。這些外觀性狀的改變，證明透過嫁接的方式使聖誕紅感染植物菌質體確實可提升園藝觀賞價值。

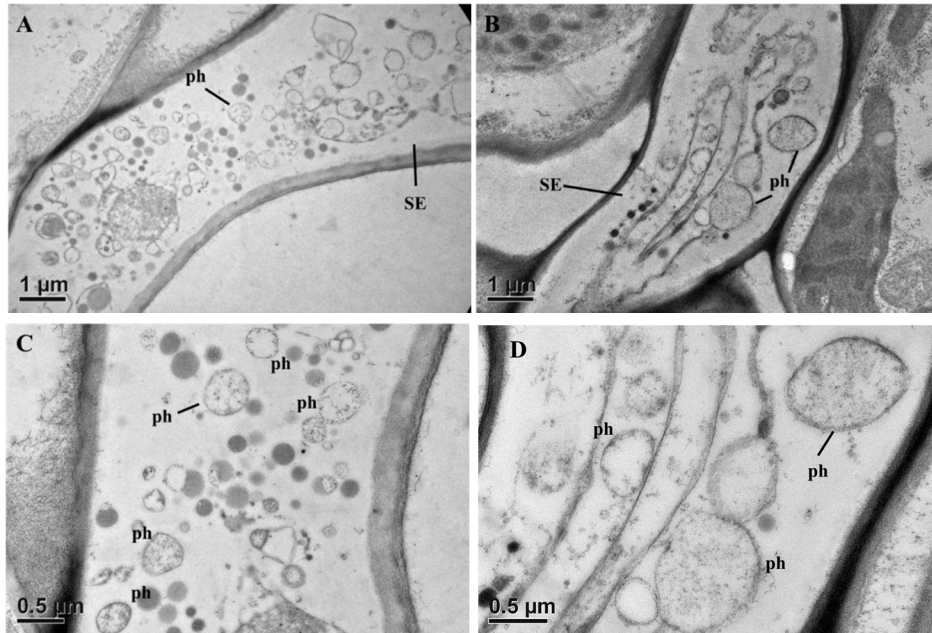


圖二、聖誕紅‘TSS-6’實生苗(A)與感染植物菌質體之嫁接苗(B)花粉培養。

Fig. 2. Pollen culture of ‘TSS-6’ seedlings (A) and plants infected with phytoplasma (B).

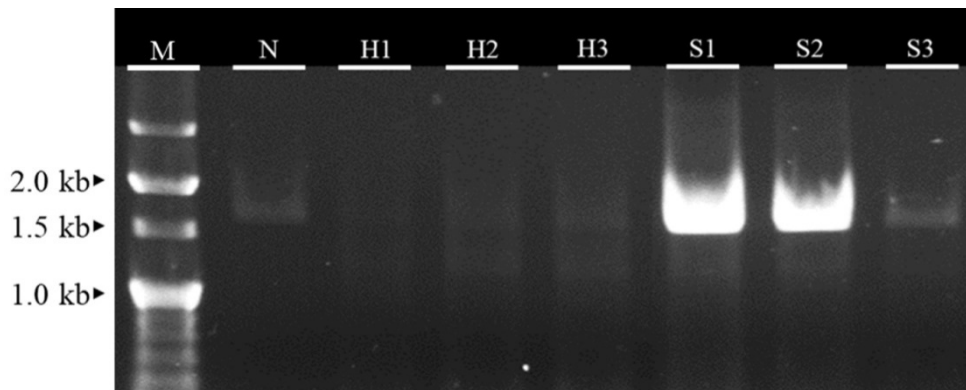
二、穿透式電子顯微鏡觀察叢枝誘導性植物菌質體

聖誕紅‘TSS-6’嫁接苗樣本組織之葉柄以穿透性電子顯微鏡觀察，可以發現其維管束組織篩管細胞中有植物菌質體存在(圖三)，呈現大小不一致之形態，於篩管細胞內具有典型之單位膜(single unit membrane)，且不具細胞壁。與 Lee 等(1997)研究結果相似，其報告指出植物菌質體主要存在地方，限制於維管束中的篩管內，老葉及其葉片中肋會有較高的累積量，僅少數植物菌質體是存在上位葉⁽¹⁰⁾。而未感染植物菌質體之聖誕紅‘TSS-6’實生苗篩管細胞中並無觀察到植物菌質體存在。



圖三、以穿透式電子顯微鏡觀察感染植物菌質體之聖誕紅‘TSS-6’篩管內聚集多型態菌質體 (A, B, C, D)。

Fig. 3. TEM micrograph of phytoplasmas in poinsettia S1(A, C) and S2(B, D). ph=phytoplasma, SE=sieve element.



圖四、以廣效性引子 P1/P7 對感染叢枝誘導性植物菌質體之聖誕紅‘TSS-6’進行巢式聚合酶連鎖反應檢測。M 為 marker；N 為去離子水對照組；H1-3 為聖誕紅實生苗之葉柄樣本；S1-S3 為聖誕紅感染植物菌質體之葉柄樣本。

Fig. 4. Results of nested polymerase chain reaction of the total DNAs extracted from symptomatic and healthy poinsettia tissue using primer pairs P1/7. M: marker; N: ddH₂O; lane H1-H3: healthy tissues of poinsettia ‘TSS-6’; lane S1-S3: diseased tissues of poinsettia ‘TSS-6’.

三、聚合酶連鎖反應檢測叢枝誘導性植物菌質體

採用針對植物菌質體 DNA 所設計的廣效性引子對 P1/P7，進行聚合酶連鎖反應，目標為增幅聖誕紅體內植物菌質體 16S-23S rDNA 序列，序列片段大小約為 1.6 kb。三株聖誕紅‘TSS-6’嫁接苗樣本完成 PCR 增幅後，皆可獲得符合目標產物的 DNA 片段(圖四)，惟 S3 的條帶較不明顯，可能是在 loading 時沒有混合均勻所致。此結果顯示本研究確實使聖誕紅感染植物菌質體，且 16S-23S rDNA 序列一致。而未感染植物菌質體的聖誕紅實生苗之樣本，則無法增幅出目標產物，顯示體內不帶有植物菌質體。

誌 謝

本試驗研究之穿透式電子顯微鏡操作及 PCR 分析，承蒙國立中興大學陳煜焜教授協助與指導，在此謹致誠摯謝意。

參考文獻

1. 朱建鏞、康江漢 2002 相互嫁接對聖誕紅實生苗性狀改變之影響 中國園藝 48(3): 257-266。
2. 陳脉紀、劉興業 1974 水稻黃萎病之電子顯微鏡研究 植物保護學會會刊 16: 42-55。
3. 陸雅芬 2015 聖誕紅之多倍體化與種間雜交 國立中興大學園藝系碩士論文 95pp。
4. 黃倉海 2002 聖誕紅實生苗選拔、芽接轉殖菌質及組培苗對稔實性之影響 國立中興大學園藝系碩士論文 104pp。
5. 植物品種權公告查詢系統 <<https://cnp.afa.gov.tw/>>。
6. Bertaccini, A., B. Duduk, S. Paltrinieri, and N. Contaldo. 2014. Phytoplasmas and phytoplasma diseases: a severe threat to agriculture. *Am. J. Plant Sci.* 5: 1763-1788.
7. Doi, Y., M. Teranaka, K. Yora, and H. Asuyama. 1967. Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows or pawlownia witches' broom. *Ann. Phytopathol. Soc. Japan* 33: 259-266.
8. Huang, C. H., and C. Y. Chu. 2008. Methods to improve the fertility of poinsettia. *Sci. Hortic.* 117(3): 271-274.
9. Kitazawa, Y., N. Iwabuchi, M. Himeno, M. Sasano, H. Koinuma, T. Nijo, T. Tomomitsu, T. Yoshida, Y. Okano, N. Yoshikawa, K. Maejima, K. Oshima, and S. Namba. 2017. Phytoplasma-conserved phyllogen proteins induce phyllody across the Plantae by degrading floral MADS domain proteins. *J. Exp. Bot.* 68: 2799-2811.
10. Lee, I.M., M. Klopmeier, I.M. Bartoszyk, D.E. Gundersen-Rindal, T. Chou, K.L. Thomson and R. Eisenreich, 1997. Phytoplasma induced free-branching in commercial poinsettia cultivars. *Nat. Biotechnol.* 15: 178-182.

11. Lee, I. 2000. Phytoplasma casts a magic spell that turns the fair poinsettia into a Christmas Showpiece. Online: Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2000-0914-01-RV
12. Maejima, K., K. Oshima, and S. Namba. 2014. Exploring the phytoplasmas, plant pathogenic bacteria. *J. Gen. Plant Pathol.* 80: 210-221.
13. Minato, N., M. Himeno, A. Hoshi, K. Maejima, K. Komatsu, Y. Takebayashi, H. Kasahara, A. Yusa, Y. Yamaji, K. Oshima, Y. Kamiya, and S. Namba. 2014. The phytoplasmal virulence factor TENGU causes plant sterility by down regulating of the jasmonic acid and auxin pathways. *Sci. Rep.* 4:7399.
14. Oshima, K. 2021. Molecular biological study on the survival strategy of phytoplasma. *J. Gen. Plant Pathol.* 87(6): 403-407.
15. Smart, C.D., B. Schneider, C.L. Blomquist, L.J. Guerra, N.A. Harrison, U. Ahrens, K.H. Lorenz, E. Seemüller, and B.C. Kirkpatrick. 1996. Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of 16S-23S rRNA spacer region. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 2988-2993.
16. Sugawara, K., Y. Honma, K. Komatsu, M. Himeno, K. Oshima, and S. Namba. 2013. The Alteration of plant morphology by small peptides released from the proteolytic processing of the bacterial peptide TENGU. *Plant Physiol.* 162: 2005-2014.

Observation of Characteristics of Poinsettia Interspecific Hybrid Infected with Poinsettia Branch-Inducing Phytoplasma (PoiBI)¹

Chen-Hao Liao²

ABSTRACT

Poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) is one of the most important ornamental potted plants in the world. In common breeding procedure, seedlings of poinsettia are grafted onto commercial varieties which have been infected with phytoplasma in order to improve horticultural characteristics such as branching and compactness. In this study, seedlings of poinsettia interspecific hybrid 'TSS-6' had been infected with phytoplasma through grafting. Confirmation of phytoplasma infection was obtained by observation under transmission electron microscopy (TEM) and detection of polymerase chain reaction (PCR) with universal primer pairs P1/P7. The results showed grafted seedlings improved branching ability compared to ungrafted ones. Grafted seedlings had shorter leaves, the leaf length/width ratio was 1.5-1.7, lower than that of ungrafted treatment (2.1). In addition, no degree of serrated leaf margin, shorter petioles were also observed among grafted seedlings, resulted in closer arrangement in comparison with ungrafted ones. Reproductive characteristics showed larger inflorescence diameter (including bracts and cyathium) of grafted than ungrafted (34.3-34.8 cm and 24.6 cm, respectively). Grafted seedlings also represented more bigger and flatter without distort bracts. However, pollen viability had significantly decreased in grafted plants (1.5-2.3%) compared to seedlings (9.6%). The results indicated that the phytoplasma infection of poinsettia had both effects on its phenotype and reproductive ability.

Key words: branching ability, pollen viability, transmission electron microscope.

¹ Contribution No. 1036 from Taichung DARES, COA.

² Research Assistant of Taichung DARES, COA.

